

SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
PRIRODOSLOVNO – MATEMATIČKI FAKULTET
BIOLOŠKI ODSJEK

Koralji i simbiotske alge
Corals and symbiotic algae

SEMINARSKI RAD

Matea Matković

Preddiplomski studij znanosti o okolišu

(Undergraduate Study of Environmental sciences)

Mentor: izv. prof. dr. sc. Petar Kružić

Zagreb, 2019.

Sadržaj

1. Uvod	2
2. Simbioza	3
3. Izbjeljivanje koralja	4
3.1. Uzroci izbjeljivanja koralja.....	5
3.2. Izbjeljivanje u mraku.....	7
3.3. Utjecaj toplinskog stresa na fotosintezu.....	7
3.4. Fotoprotektivni mehanizmi.....	8
3.5. Mehanizmi uklanjanja ROS-a	9
3.6. Zakiseljavanje oceana	9
3.7. Mehanizmi prekida koraljno-algalne simbioze.....	10
3.8. Genski odgovor na toplinski stres.....	12
4. Osmoregulacija	13
4.1. Kompatibilni organski osmoliti – COO	14
5. Izbjeljivanje koralja i osmoregulacija	15
6. Filogenija	16
7. Geološka prošlost.....	17
8. Važnost koraljnih grebena.....	18
9. Zaključak.....	20
10. Literatura	21
11. Sažetak	24
12. Summary.....	24

1. Uvod

Grebenotvorni koralji, koji pripadaju razredu Anthozoa (Cnidaria), tvore endosimbiozu s dinoflagelatnim algama iz roda *Symbiodinium* (poznatim i kao zooxantele), a nalaze se u endodermalnom tkivu koralja domaćina. U ovom simbiotskom odnosu alge pružaju svom domaćinu organski ugljik u obliku produkata fotosinteze kako bi im osigurale metaboličku energiju, a zooxantele imaju zaštitu i primaju anorganske spojeve (kao što su CO₂ i dušični spojevi) od domaćina što stvara održivo okruženje za fiziologiju koralja (Rehman i sur., 2016). Ova simbioza ključna je za uspjeh modernih grebena u oligotrofnim (sup)tropskim vodama koji sadrže stotine tisuća biljnih i životinjskih vrsta (Frankowiak i sur., 2016; Knowlton i Rohwer, 2003; Levin i sur., 2016).

Gubitak unutarstaničnih simbionata uslijed stresnih utjecaja iz okoliša naziva se izbjeljivanjem koralja, što uzrokuje blijedenje koraljnog tkiva i rezultira ranjivim stanjem samog koralja (Buerger i Oppen, 2018; Levin i sur., 2016). Mehanizmi koji pokreću napuštanje simbiotskog partnera još uvijek nisu u potpunosti razjašnjeni, međutim uključivanje reaktivnih oblika kisika (eng. *reactive oxygen species* – ROS), poput superoksidnog aniona (O₂⁻), singletnog kisika (¹O₂) i vodikovog peroksida (H₂O₂), koji nastaju u kombiniranom toplinskom i svjetlosnom stresu, implicirano je na temelju niza različitih dokaza. Jedan od ključnih procesa je istjecanje ROS-a iz simbionta u domaćina koji tada nadvlada antioksidacijski kapacitet domaćinskog tkiva pod stresnim uvjetima. Nedavne studije također su otkrile detalje fotooksidacijskog oštećenja simbiotskih algi u stresnim uvjetima, a postoje dokazi i da su različite antioksidacijske sposobnosti i tolerancija stresa povezane s različitim genetskim tipovima roda *Symbiodinium* (Levin i sur., 2016; Rehman i sur., 2016).

Učinkovito recikliranje hranjivih sastojaka između algi i koralja omogućava cjelokupnim ekosustavima da postoje u vodama s malo hranjivih sastojaka te su tako koraljni grebeni žarišta biološke raznolikosti, a njihova je biološka i ekonomska vrijednost golema (Levin i sur., 2016; Ochsenkühn i sur., 2017). Posljednjih desetljeća ovoj simbiozi sve više prijetе poremećaji izazvani antropogenim utjecajem što navodi na zaključak da će koraljni grebeni biti nepovratno oštećeni unutar ovog stoljeća. Sve veća učestalost i ozbiljnost masovnih događaja izbjeljivanja koralja povezanih s globalnim klimatskim promjenama rezultiralo je smanjenjem živih pokrova koralja širom svijeta (Barshis i sur., 2014; Levin i sur., 2016).

2. Simbioza

Dinoflagelati ili svjetleći bičaši su jednostanične alge koje pripadaju skupini Alveolata. Oni igraju ključnu ulogu u velikom broju ekosustava, ali jedna od njihovih ekološki najznačajnijih uloga je u simbiotskom udruženju *Symbiodinium* sp. s grebenotvornim koraljima. Ova simbioza biološka je pokretačka snaga koja je osnova za uspostavu i održavanje ekosustava tropskih koraljnih grebena (Bertucci i sur., 2009; Levin i sur., 2016). Energetski temelj ekosustava tropskih koraljnih grebena ovisi o staničnoj integraciji dva evolucijski i metabolički različita organizma. Koralj domaćin održava fotosintetske dinoflagelate unutar membranom vezanih vakuola unutar specijaliziranih stanica svog unutarnjeg gastrodermalnog sloja. Obično su simbionti vrlo gusto raspoređeni, najmanje milijun stanica alga po kvadratnom centimetru koraljnog tkiva (Krediet i sur., 2013; Oakley i Davy, 2018).

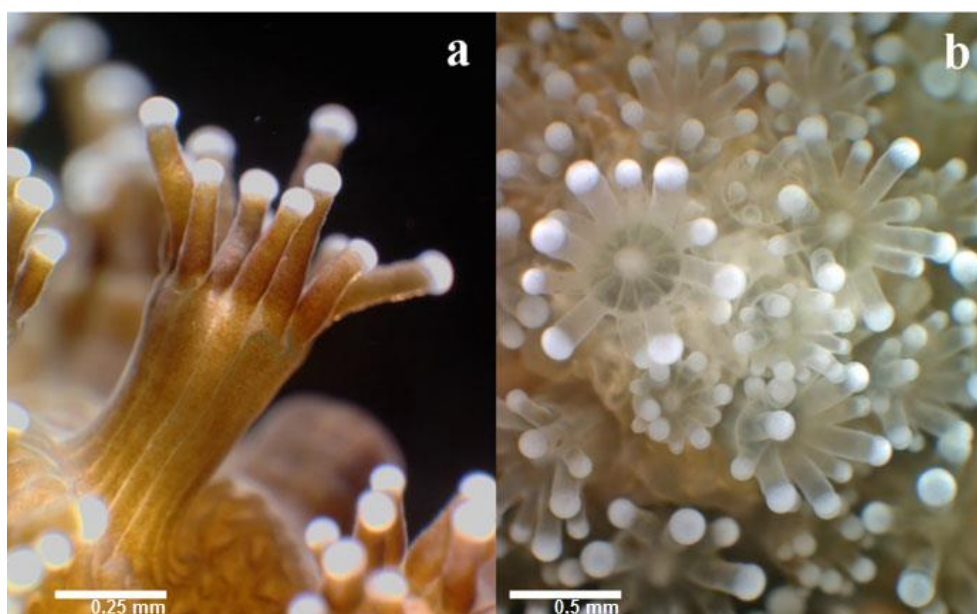
Koralj domaćin igra glavnu ulogu u opskrbi dinoflagelata ugljikom za fotosintezu kroz sustav sličan mehanizmu koncentracije ugljika u stanicama slobodnoživućih algi (Gattuso i sur., 1999) dok dinoflagelati prenose približno 60-80% produkata fotosinteze u domaćina (Krediet i sur., 2013). Međutim, koralji moraju uravnotežiti potrošnju energije (isporuka hranjivih tvari dinoflagelatima) s dobivanjem energije (fiksirani ugljik iz dinoflagelata). Da bi se to postiglo, koralji aktivno reguliraju gustoću simbionata, sezonski i kao odgovor na lokalne okolišne uvjete (Nielsen i sur., 2018). Uspjeh ovog udruženja temelji se na komplementarnoj međustaničnoj razmjeni hranjivih sastojaka koja zahtijeva toleranciju prisutnosti simbionta od strane imunoloških mehanizama domaćina te koordinirani rast i reprodukciju oba partnera (Oakley i Davy, 2018).

Endosimbiotski odnos koralja i dinoflagelata posebno je osjetljiv na okolišne promjene (Bertucci i sur., 2009; Ochsenkühn i sur., 2017) pa tako, kad se uvjeti dovoljno promijene da uzrokuju fiziološki stres, to može dovesti do pojave poznate kao izbjeljivanje koralja (Nielsen i sur., 2018). Izbjeljivanje koralja posljedica je poremećaja tih interakcija što rezultira neuspjehom simbioze (Oakley i Davy, 2018), a karakterizira je gubitak simbiotskih algi, njihovih pigmenata ili oboje i glavni je doprinos globalnom propadanju koraljnih grebena (Bertucci i sur., 2009). Do danas su identificirani brojni uzročnici izbjeljivanja koralja, uključujući, ali ne ograničavajući se na promjene temperature i svjetlosti, kao i neravnotežu hranjivih tvari (Nielsen i sur., 2018). Nadalje, koralji koji rastu na grebenima u plitkim područjima izloženi su pojačanim Sunčevim zračenjem, kao i velikim fluktuacijama i ekstremnim temperaturama. Može se očekivati da organizmi u ovim okruženjima imaju veće tolerancije na izloženost visokoj svjetlosti i temperaturi. Relativno mala smanjenja

učinkovitosti fotosinteze algi u plitkovodnim grebenima kao odgovor na izloženost visokoj temperaturi sugeriraju da su ti simbiotski dinoflagelati tolerantniji na izloženost visokim temperaturama (Salih i sur., 1998).

3. Izbjeljivanje koralja

Čini se da stresni odgovori grebenotvornih koralja na razne ekološke poremećaje potječu iz njihovih simbiotskih algi (Salih i sur., 1998). *Symbiodinium* posjeduje karotenoid peridinin koji ima veću apsorpciju zelene do plave svjetlosti u odnosu na klorofil. Peridinin je karakterističan za dinoflagelate, zajedno s klorofilima *a* i *c₂* te ovi pigmenti daju algalnim simbiontima zlatnosmeđu boju i pružaju koralju taman ton zatamnjujući bijeli skelet (Sl. 1. a) (Oakley i Davy, 2018). Sve češće su koraljni grebeni pod utjecajem globalnog fenomena poznatog kao izbjeljivanje koralja (Lesser, 1996), odnosno vizualno izbjeljivanje koralja koje nastaje ekspulzijom (izbacivanjem) njihovih endosimbionata i/ili gubitkom fotosintetskih pigmenata, omogućujući skeletu bijelog aragonita da postane vidljiv kroz prozirno koraljno tkivo (Sl. 1.b) (Ochsenkühn i sur., 2017; Plass-Johnson i sur., 2015; Salih i sur., 1998; Tolleter i sur., 2013).



Slika 1. Kameni koralj *Stylophora pistillata*, a) bočni prikaz izbočenih polipa s vidljivom populacijom zooxantela i b) pogled odozgo na izbočene izbjeljene polipe s gotovo prozirnim tkivom. Preuzeto i prilagođeno iz Plass-Johnson i sur., 2015.

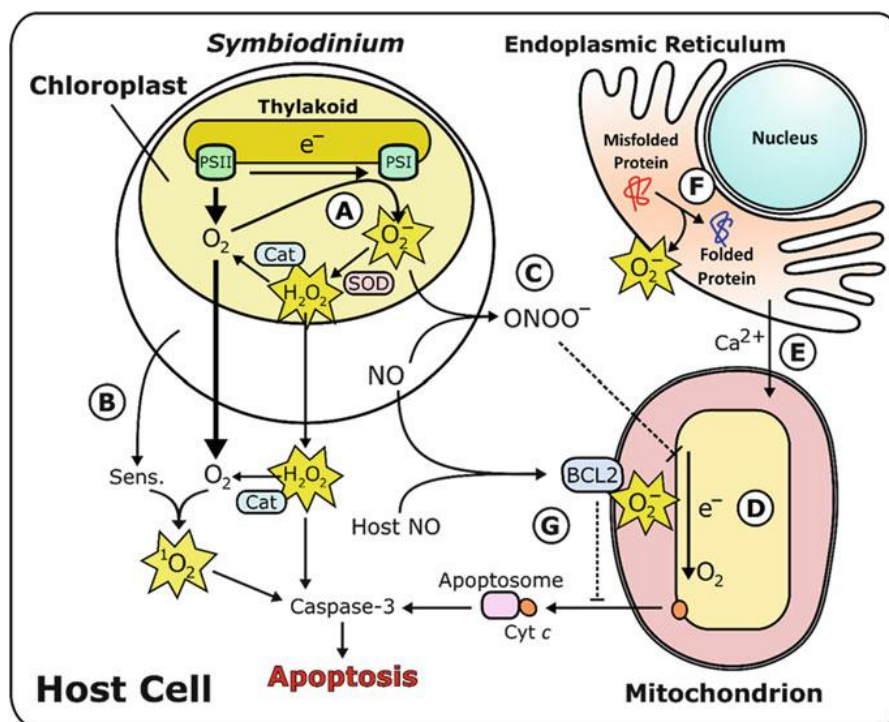
Izbjeljivanje koralja prilično je zabrinjavajući fenomen jer su se epizode izbjeljivanja znatno povećale u posljednjih nekoliko desetljeća (Knowlton i Rohwer, 2003). Kao posljedica toga, sve veća izloženost okolišnom stresu, posebice rastućim temperaturama morske vode, prijeti postojanju koraljnih grebena na globalnoj razini (Ochsenkühn i sur., 2017).

3.1. Uzroci izbjeljivanja koralja

Primarni okolišni čimbenik koji izaziva izbjeljivanje koralja su povišene temperature morske vode koje uzrokuju fiziološki toplinski stres. Ekstremne razine Sunčevog zračenja, uključujući vidljivo i UV zračenje, mogu stvoriti dodatni fiziološki stres za povećanje štetnog utjecaja termičkog izbjeljivanja (Lesser, 1996; Plass-Johnson i sur., 2015; Salih i sur., 1998).

Oksidativna teorija izbjeljivanja koralja sugerira da se stvaranje ROS-a povećava tijekom toplinskog stresa, prevladava mehanizam domaćina i simbionata za uklanjanje ROS-a i popravljivanje oksidativnih oštećenja i na taj način oštećuje tkivo domaćina. Visoke temperature i UV zračenje rezultiraju velikom količinom energije koja ulazi i obrađuje se pomoću fotosintetskog aparata algi, prije svega kompleksa za skupljanje svjetlosti (eng. *light harvesting complex* – LHC) i fotosintetskog lanca prijenosa elektrona alganog kloroplasta. Neuspjeh mehanizama koji ublažavaju ovaj stres i posljedice kada se savladaju vjerojatno su početni događaji u kaskadi izbjeljivanja koralja (Nielsen i sur., 2018; Oakley i Davy, 2018). Nadalje, nedavna istraživanja pokazuju da domaćin povećava svoje antioksidante kao odgovor na toplinski stres prije simbionata i prethodnog fiziološkog pada ukazujući da stres fotosustava u stvari može biti odgovor u kasnoj fazi procesa izbjeljivanja, a ne i početni pokretač ekspanzije (Nielsen i sur., 2018).

Izbjeljivanje koralja uglavnom potiču dva faktora: fotoinhibicija i oksidativni stres. Jasan pokazatelj za izbjeljivanje koralja je da dinoflagelati doživljavaju ili jedan ili oba ova stresa. Fotoinhibicija je proces u kojem kombinirani utjecaj neprestano visoke apsorpcije ekscitacijske energije i smanjenje fotosintetskog prijenosa elektrona oštećuje reakcijski centar fotosustava II (PSII). Fotoinhibicija može biti uzrokovana izlaganjem toplinskom stresu i povećanom UV zračenju, a dovodi do smanjene stope fotosinteze i trošenja energije za obnovu oštećenih tkiva. Oksidativni stres nastaje u organizmu kada proizvodnja i akumulacija ROS-a premašuju sposobnost organizma da kontrolira njegove razine. ROS su skupina spojeva koji, kada se akumuliraju u stanicama, mogu oštetiti pigmente, lipide, DNA i proteine, a normalno ih kontroliraju antioksidanti koje proizvodi organizam. Proizvodnja ROS-a može se brzo povećati kod fotosintetskih organizama kao što su dinoflagelati kada su izloženi povišenoj temperaturi i UV zračenju. Kako se ova dva čimbenika povećavaju, proizvodnja ROS-a nadvladava antioksidacijsku obranu i nanosi veliku štetu. Osim što su preneseni domaćinu iz dinoflagelata, ROS također proizvode i koralji domaćini kao odgovor na toplinski stres (Albright, 2018; Lesser, 1996.; Plass-Johnson i sur., 2015).



Slika 2. Mehanizmi toplinskog stresa koji mogu pokrenuti ili sudjelovati u kaskadi izbjeljivanja. Preuzeto iz Oakley i Davy, 2018.

Signalni putovi uvelike su pojednostavljeni radi jasnoće (Sl. 2.). Put A prikazuje inhibiciju fotosintetskog prijenosa elektrona između PSII i PSI koja potiče stvaranje O_2^- iz fotosintetskog O_2 putem Mehlerove reakcije. O_2^- se pretvara u H_2O_2 pomoću SOD-a, a zatim u O_2 katalazom (Cat). H_2O_2 oslobođen u domaćina može se razgraditi njegovim SOD-om. U putu B O_2 proizveden fotosintezom može reagirati s pojačivačima singletnog kisika (Sens.) koje također oslobađaju endosimbionti pri čemu nastaje visoko reaktivni 1O_2 . Nadalje, put C prikazuje dušikov oksid (NO) koji reagira s O_2^- i tvori peroksinitratni anion ($ONOO^-$) koji inhibira lanac prijenosa elektrona u mitohondriju. Stvaranje mitohondrijskog ROS-a u respiratornom lancu prijenosa elektrona (put D) povećava se zbog termički inhibirane visoke stope disanja ili inhibicije prijenosa elektrona, neovisno o fotosintezi. Endoplazmatski retikulum (ER) dovodi do oslobađanja kalcija (Ca^{2+}) u mitohondrije promičući oslobađanje citokroma c (Cyt c) kao što prikazuje put E. Visoke temperature uzrokuju porast pogrešnog smatanja proteina u ER-u, a ponovno smatanje i popravljjanje proteina rezultira stvaranjem ROS-a i stresom na ER (put F). Na kraju, put G prikazuje mitohondrijski protein B-staničnog limfoma 2 (BCL2) koji regulira apoptozu inhibirajući otpuštanje Cyt c. Ova funkcija može biti izravno onеспособljena od strane NO, ROS-a ili mitohondrijskog unosa Ca^{2+} . Cyt c oslobođen u citoplazmi veže se za apoptosom inicijalizirajući kaspaznu aktivnost i završavajući u apoptozi stanica domaćina (Oakley i Davy, 2018).

3.2. Izbjeljivanje u mraku

Već je dugo poznato da koralji mogu izgubiti svoje dinoflagelatne simbionte za vrijeme duge inkubacije (> 10 dana) u stalnom mraku, a postoji i jedno izvješće koje sugerira da takvo tamno izbjeljivanje može biti ubrzano toplinskim stresom. Brzo izbjeljivanje koralja koje se događa u mraku pokazuje da mora postojati barem jedan signal za izbjeljivanje koji nije povezan s fotosintetski proizvedenim ROS-om, stoga bi se prilikom procjene utjecaja temperature na ekosustave koraljnih grebena trebale uzeti u obzir visoke temperature mora noću koje su u velikoj mjeri zanemarene. Nadalje, u uvjetima izrazitog porasta temperature, izbjeljivanje koje se pojavi tijekom dana neće biti ublaženo noću niti će se u potpunosti spriječiti strategijama sanacije koje uključuju fizičko zasjenjivanje grebena. Konačno, čini se da će domaćini imati izravnu korist za aktiviranje izbjeljivanja tijekom izlaganja visokoj temperaturi u mraku: ekspulzija algi tijekom noći smanjila bi broj endosimbionata koji borave u tkivu domaćina u zoru, kada bi se stvorio fotosintetski ROS (ili drugi mehanizam ovisan o svjetlu) i vjerojatno pojačao štetne učinke povišene temperature. Dakle, put koji pokreće izbjeljivanje u mraku može predstavljati prethodno neočekivanu koraljnu prilagodbu na život u intimnoj simbiozi s partnerom koji može postati obaveza u stresnim uvjetima (Tolleter i sur., 2013).

3.3. Utjecaj toplinskog stresa na fotosintezu

Slično kao što je slučaj i s evolucijski odvedenijim biljkama, pretpostavlja se da je smanjena stopa fotosinteze algi pri izlaganju temperaturama iznad 30°C rezultat reorganizacije lipida tilakoidne membrane (povišena temperatura uzrokuje povećanje fluidnosti membrane) što dovodi do smanjenja fotosintetskog kapaciteta prijenosa elektrona. Pretpostavlja se da je mjesto oštećenja uzrokovanog temperaturom u simbiotskim dinoflagelatima poremećaj reakcijskih centara PSII i gubitak kompleksa koji oslobađa kisik (eng. *oxygen-evolving complex*). Nedavna istraživanja pokazala su da je oštećenje PSII sekundarno i da je primarni utjecaj povišene temperature prekid prijenosa elektrona u sekundarne reakcije fotosinteze, odnosno Calvinov ciklus. Smanjeni prijenos elektrona u reakcije Calvinovog ciklusa na kraju dovodi do pretjerane redukcije fotosintetskih komponenata za prijenos elektrona, a time i do povišene koncentracije štetnih radikala kisika i hidroksida što zauzvrat oštećuje PSII (Nelson i Cox, 2008; Salih i sur., 1998).

Razina unutarstaničnog $^1\text{O}_2$ povećava se kad se stanice preusmjere iz normalnih uvjeta rasta u povećani intenzitet svjetla i povišene temperature. Taj se fenomen najbolje može objasniti povećanom razinom redukcije elektronskih nosača smještenih na akceptorskoj strani

fotosustava I (PSI), kao i baze plastokinona (PQ) smještene između PSII i PSI. Ova situacija inducirana je nepostojanjem funkcionalne fiksacije CO₂ u Calvinovom ciklusu, koji služi kao posljednje odredište elektrona u procesu fotosinteze. Povećana razina redukcije PQ povećava rekombinaciju naboja u reakcijskom centru PSII što zauzvrat olakšava nastajanje ¹O₂ (Rehman i sur., 2016).

3.4. Fotoprotektivni mehanizmi

Fotorespiracija je jedan od nekoliko fotoprotektivnih mehanizama koji omogućuje alternativni put elektrona za preusmjeravanje viška ekscitacijske energije koja bi u suprotnom mogla dovesti do stvaranja ROS-a i fotooksidacijskog oštećenja proteina, lipida i pigmenata. U usporedbi s fotosintezom, fotorespiracija se obično smatra energetski nepovoljnim procesom zbog veće potrošnje NADPH i ATP-a po molekuli proizvedenog šećera, ali može biti važan fiziološki put za ublažavanje oksidacijskog stresa tijekom razdoblja prekomjerne ekscitacijske energije. Tijekom fotorespiracije rubisco veže O₂ (za razliku od vezanja CO₂ u Calvinovom ciklusu), što rezultira proizvodnjom fosfoglikolata (PG). Višak PG može inhibirati Calvinov ciklus pa fosfoglikolat-fosfataza razgrađuje PG do glikolata omogućujući Calvinovom ciklusu da se nastavi (Albright, 2018; Nelson i Cox, 2008).

Symbiodinium, poput ostalih fotosintetskih organizama, posjeduje razne mehanizme za optimizaciju protoka elektrona kroz fotosintetski aparat izbjegavajući pritom fotooštećenja. Pokazalo se da je PSII osjetljiv na fotooštećenje, posebno na reakcijskom proteinu D1, koji može biti mjesto funkcionalne diferencijacije između tipova roda *Symbiodinium*. Relativne stope popravljivanja PSII tijekom toplinskog stresa ispitivane su kao potencijalni izvor varijabilne toplinske osjetljivosti između genotipova roda *Symbiodinium*. Degradacija PSII smanjuje sposobnost fotosintetskog aparata da koristi zarobljenu svjetlosnu energiju što rezultira povećanim pritiskom na preostale jedinice PSII. PSII i PSI u dinoflagelatima ostaju u neposrednoj fizičkoj blizini unutar tilakoida, omogućujući dvosmjerni prijenos energije između njih pomoću LHC-a, posebno za vrijeme toplinskog stresa. Reorganizacijom PSII i PSI kompleksa unutar tilakoida, *Symbiodinium* može usmjeriti višak apsorbirane svjetlosne energije dalje od PSII u PSI gdje se može pretvoriti u toplinu i ugasiti reduciranim reakcijskim klorofilom P₇₀₀⁺. To se događa s odgovarajućim gubitkom protoka elektrona. Dodatni fotosintetski pigmenti također mogu igrati ulogu u fotoprotekciji reguliranjem fotosintetskog protoka elektrona i raspršivanjem viška apsorbirane svjetlosne energije. Nefotokemijsko gašenje, odnosno rasipanje fotosintetskog toka elektrona kao topline pripisano je prvenstveno ksantofilskom ciklusu (Oakley i Davy, 2018).

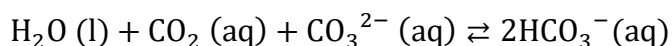
3.5. Mehanizmi uklanjanja ROS-a

ROS su neizbježni nusproizvod prijenosa elektrona i u mitohondrijama i u kloroplastima, stoga su svi aerobni organizmi razvili mehanizme za učinkovito rješavanje ROS-a i na taj način ograničavajući štete na vitalnim staničnim komponentama (Nielsen i sur., 2018). Superoksidne dismutaze (SOD) ključno su sredstvo za uklanjanje superoksida, peroksidaze sudjeluju u uklanjanju vodikovog peroksida, a molekularni šaperoni neophodni su za ponovno namatanje oštećenih proteina čineći ih ključnim doprinositeljima toplinske tolerancije (Levin i sur., 2016).

U stanicama se ROS proizvodi u mitohondrijama i kloroplastima gdje SOD djeluje kao prva linija obrane u važnom procesu detoksikacije. SOD pretvara O_2^- , proizvedene redukcijom jednog elektrona O_2 , u stabilniji H_2O_2 . Da bi se ograničilo stvaranje ovog citotoksičnog spoja, H_2O_2 se brzo prevodi u bezopasni H_2O i O_2 širokom lepezom enzimskih i neenzimskih antioksidansa. Međutim, u stresnim uvjetima lokalna koncentracija ROS-a može se povećati. Ako je proizvodnja ROS-a veća od reduktivnog potencijala antioksidacijskog sustava, ROS može dovesti do nekoliko oblika staničnog oštećenja, uključujući oštećenje membrane, oksidaciju proteina i degeneraciju DNA (Nielsen i sur., 2018). Ukoliko brzina produkcije ROS-a prelazi brzinu detoksikacije, može doći do širokog oštećenja stanica, uključujući potencijalno istjecanje ROS-a iz stanice alge te pokretanje kaskade izbjeljivanja. Dugogodišnja zagonetka u ovom modelu je koliko su visoko reaktivni, kratkotrajni ROS sposobni proći kroz više membrana da bi komunicirali s domaćinskom stanicom (Oakley i Davy, 2018).

3.6. Zakiseljavanje oceana

Porast atmosferskog CO_2 zajedno s porastom globalne temperature morske površine pokreće promjene u kemiji oceana, odnosno proces poznat kao zakiseljavanje oceana. Trenutno ocean apsorbira otprilike jednu trećinu emisije CO_2 iz fosilnih goriva i na kraju će izdvojiti do 90% antropogenog CO_2 , uzrokujući mjerljive pomake u kemiji karbonata u morskoj vodi. CO_2 reagira s morskom vodom pomoću sljedeće kemijske reakcije:



Kao rezultat toga, povećavaju se koncentracije otopljenog CO_2 i bikarbonata (HCO_3^-), dok koncentracija karbonata (CO_3^{2-}) i pH morske vode opadaju. U posljednjih 200 godina, globalni prosječni pH površinskih voda oceana smanjio se za oko 0,1 jedinicu (od pH ~8,2 do pH 8,1) što se izjednačava s povećanjem kiselosti (tj. koncentracije vodikovih iona) od približno 30% (Albright, 2018).

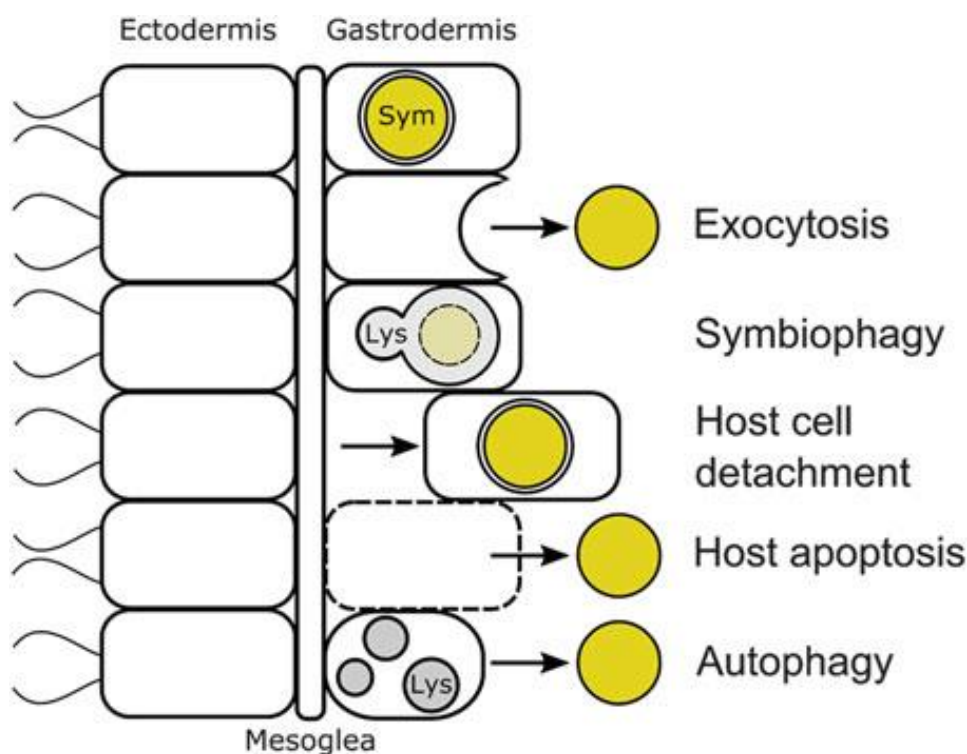
Znanstvenici sugeriraju da zakiseljavanje oceana može utjecati na stvaranje ROS-a i naknadni oksidativni stres kompromitirajući enzimatsku aktivnost ključnih fotoprotektivnih putova. Budući da su mnogi unutarstanični enzimi osjetljivi na pH, potrebno je još istraživanja o učincima porasta količine CO₂ na enzimске putove koji podupiru koraljne simbioze. Nadalje, važno je napomenuti da povećana količina CO₂ ne rezultira automatski povećanom produktivnošću jer drugi faktori poput dušika, fosfora i željeza mogu ograničiti fotosintezu. Shodno tome, vrijedno je razumjeti međusobnu povezanost utjecaja zakiseljavanja oceana na primarnu produktivnost pri različitim količinama hranjivih tvari (Albright, 2018).

Do danas nisu zabilježeni slučajevi izbjeljivanja izazvanog zakiseljavanjem u prirodnom okruženju oceana već je većina onoga što znamo utvrđena eksperimentalno i nije potvrđeno u ekološkom smislu. Međutim, stručnjaci pretpostavljaju da promjene u kemiji morske vode utječu na pragove izbjeljivanja mijenjajući rad mehanizma koncentracije ugljika, fotoprotektivne mehanizme (kao što je fotorespiracija) i/ili izravne utjecaje acidoze. Također, povišena temperatura igra veću ulogu u promjeni fizioloških reakcija od pCO₂ (Albright, 2018).

3.7. Mehanizmi prekida koraljno-algalne simbioze

Neke studije gubitku simbiotskih partnera pripisuju nekoliko mehanizama (Sl. 3.), međutim, doprinosi svakog tijekom prirodnog izbjeljivanja još uvijek nisu jasni pa mogu djelovati u kombinaciji ovisno o intenzitetu i trajanju toplinskog stresa. Prvi predloženi mehanizam koraljnog izbjeljivanja je egzocitoza čitavih simbiotskih stanica, bilo živih ili razgrađenih, u kojima se stanice algi izbacuju iz stanica domaćina u gastrovaskularnu šupljinu i iz usta životinje. Ekspulzija simbionata obično se događa svakodnevno kao sredstvo kontrole populacije simbionata kod mnogih, premda ne svih, žarnjaka. Simbiofagija uključuje razgradnju simbiotskih stanica autofagičnim putovima domaćina. Algalni simbiosom je kasni endosom iz domaćina koji postoji u stanju zaustavljene fagocitoze, gdje je pri uspješnoj simbiozi konzumacija stranih materijala trajno zaustavljena. Simbiofagični proces može uključivati reaktivaciju fagocitnog puta tijekom toplinskog ili oksidativnog stresa. Alternativno, stanice algi mogu izravno patiti od toplinskog ili oksidativnog stresa i degradirati se *in situ* bilo pomoću kontroliranih (apoptoza) ili nekontroliranih (nekroza) mehanizama. U apoptozi se pokreće programirani put stanične smrti uslijed izlaganja ROS-u ili velikog oštećenja DNA ili drugih staničnih komponenti. Kod nekroze funkcioniranje stanice je poremećeno do te mjere da se dezintegrira bez kontrolnog puta. Degradacija *in situ* utvrđena je kao osnovno sredstvo gubitka simbionata u nekoliko prirodnih događaja izbjeljivanja u kamenim koraljima. Za razliku od ekspulzije ili razgradnje simbionata, moguće je da se cijele stanice domaćina koje

sadrže *Symbiodinium* odvajaju od gastrodermalnog sloja. Ovaj je mehanizam također primijećen kao odgovor na kemijski izazvan stres. Konačno, dinoflagelatne stanice mogu se izgubiti uslijed smrti domaćina. Predložena su dva kontrolirana puta smrti domaćina zbog toplinskog ili oksidativnog stresa: apoptoza i autofagija – kontrolirana sekvestracija i uništavanje staničnih struktura. Autofagija je visoko očuvani mehanizam za uklanjanje kompromitiranih ili stranih organela i stanica u kojem su označene ciljne strukture omotane fagocitnim vakuolama i razgrađene fuzijom autofagosoma s lizosomima koji sadrže probavne enzime. U nekim slučajevima se cijele stanice mogu razgraditi na ovaj način. I autofagija i apoptoza mogu biti inicirane ROS-stresom, ali posljedica svake i relativna važnost autofagije ostaju nepoznati. Nekontrolirana stanična smrt ili nekroza dokumentirana je u slučajevima jakog toplinskog stresa i u stanicama domaćina i u simbiontima, a pretpostavlja se da će nastupiti kada se kontrolirani apoptotički ili autofagični putovi savladaju teškim i trajnim staničnim oštećenjima (Oakley i Davy, 2018; Plass-Johnson i sur., 2015).



Slika 3. Mehanizmi gubitka simbionata iz stanica koralja domaćina nakon početka izbjeljivanja. Oznake: Sym = *Symbiodinium*, Lys = lizosom domaćina.

Preuzeto iz Oakley i Davy, 2018.

3.8. Genski odgovor na toplinski stres

Koralji domaćini pokazuju pet puta veće promjene u ekspresiji gena kao odgovor na toplinski stres u usporedbi s istim genima u njihovim simbiotima što sugerira da imaju različite načine reagiranja na stres u okruženju ili različite uloge u koordiniranom odgovoru (Barshis i sur., 2014). Rezultati istraživanja Levin i sur. (2016) pokazuju da neki dinoflagelati roda *Symbiodinium* pokazuju transkriptomsku plastičnost i da mogu regulirati veliki broj gena kao odgovor na povišenu temperaturu. Prilagodba na stresna stanja putem transkripcijskih promjena primijećena je kod drugih morskih organizama, uključujući koralje, ali nikada prije u rodu *Symbiodinium* ili u bilo kojoj vrsti dinoflagelata. Nadalje, pokazalo se da smanjena metabolička i biosintetska aktivnost koreliraju s produženim vremenom preživljavanja organizama pod stresom obzirom da omogućuju značajnu uštedu energije. Potencijalna spolna reprodukcija roda *Symbiodinium* posebno je značajna jer mejoza stvara genetsku raznolikost kromosomskim modifikacijama i rekombinacijom te tako potiče prilagodbu. Geni specifični za mejozu prethodno su identificirani u rodu *Symbiodinium*, ali dosad spolna reprodukcija nije bila izravno opažena. Međutim, nedavna su istraživanja pokazala da rekombinacija tijekom mejoze može biti mehanizam adaptacije u rodu *Symbiodinium* (Levin i sur., 2016).

Prilagodba na povišenu temperaturu naglašava važnost visokoregulirajućih karakterističnih gena toplinske tolerancije. Osobito je značajna regulacija gena za vezivanje nesmotanih proteina, smatanje proteina i oksidoreduktazni kompleks koji vjerojatno smanjuju oštećenje fotosintetskog aparata i izlaska ROS-a iz stanica. Pretpostavlja se da promatrani transkripcijski odgovor može također omogućiti populaciji da održava simbiozu sa svojim koraljnim domaćinom na povišenoj temperaturi. Suprotno tome, uočeno istjecanje ROS-a iz stanica zbog neuspjelog prilagođavanja povišenoj temperaturi može prouzrokovati oksidativno oštećenje koralja što rezultira izbjeljivanjem (Levin i sur., 2016).

Mozaicizam unutar tkiva domaćina koralja ili genetska raznolikost unutar populacije *Symbiodinium* može rezultirati različitim razinama tolerancije okolišnog stresa u jednoj koloniji koralja, a često se opaža i djelomična smrtnost kolonija nakon teških događaja izbjeljivanja. Događaji izbjeljivanja koralja smanjuju gustoću algalnih simbionata u nekim slučajevima na samo 10% izvorne populacije u kolonijama koralja koje prežive stresni događaj. Preostale stanice dinoflagelata mogu predstavljati pojedince koji su odolijevali izbjeljivanju jer su bili u mikrostanišnim refugijima (npr. zasjenjene grane) ili mogu predstavljati genotipove koji su bolje prilagođeni stresoru izbjeljivanja, npr. povišenoj temperaturi. Pri ponovnoj naseljenosti tkiva koralja tijekom oporavka adaptirani genotip vjerojatno će se širiti i povećavati. Takvi

pomaci dokumentirani su za različite tipove roda *Symbiodinium* u prirodnim i eksperimentalnim uvjetima nakon jakog izbjeljivanja. Pored ekstremnih događaja, očekuje se da klimatske promjene uzrokuju postupno i trajno povećanje srednjih temperatura morske vode što je kontinuirana selektivna sila koja će gurnuti populacije koralja i dinoflagelata roda *Symbiodinium* prema povećanoj toplinskoj toleranciji ako postoji potencijal da se razvija u tom smjeru (Oppen i sur., 2011).

4. Osmoregulacija

Sve stanice trebaju stabilno okruženje za optimalnu metaboličku funkciju. Da bi se postigla takva stabilnost, stanice s polupropusnim membranama moraju neprestano prilagođavati svoj stanični volumen kako bi održale ravnotežu između unutarstanične i izvanstanične osmolarnosti, procesa poznatog kao osmoregulacija. Ovaj se fenomen pojavljuje neprestano dok stanice stupaju u interakciju sa svojim izvanstaničnim okruženjem, medijem koji u dinamičkim uvjetima varira u osmolarnosti. Osmoregulaciju treba razlikovati od osmotskog stresa koji se odnosi na određeni stupanj osmoregulacije koji nadilazi bazalnu razinu i može biti energetski skuplji (Mayfield i Gates, 2007).

Koraljno-algalna simbioza predstavlja izazovni i jedinstveni osmoregulacijski sustav. Koralj domaćin sadrži unutarstanične simbionate različite fiziološke dobi unutar svojih gastrodermalnih stanica i održava suživot koji karakterizira razmjena metabolita. Kao rezultat toga, domaćin mora uravnotežiti svoju izvanstaničnu osmolarnost s unutarstaničnim okruženjem na koje utječe i njegov vlastiti metabolizam kao i metabolizam simbionata. Izvanstanični okoliš simbionta definiran je aktivnostima stanice domaćina, aktivnostima drugih simbionata unutar stanice domaćina i sposobnošću domaćina da ublažava izvanstanični osmotski tlak. U tom smislu, zooxantele se mogu smatrati kao visoko osmotski aktivni organeli (Mayfield i Gates, 2007).

Koralji, kao i drugi beskralježnjaci, nemaju tendenciju mijenjati volumen stanica i unutarstanične koncentracije iona kada se uravnotežuju s vanjskom osmolarnošću. Visoke i varijabilne koncentracije anorganskih iona mogu uzrokovati staničnu disfunkciju zbog utjecaja na makromolekularnu strukturu, posebno one uobičajene u morskoj vodi poput Na^+ , K^+ i Cl^- . Uz to, unošenje previše vode kao odgovor na osmotski stres može imati negativne utjecaje poput oštećenja citoskeleta i membrane. Stanicama je potrebna točno određena količina vode i otopljenih tvari kako bi se bezbroj biokemijskih reakcija u otopini odvijalo odgovarajućim brzinama (Mayfield i Gates, 2007).

4.1. Kompatibilni organski osmoliti – COO

Većina morskih beskralježnjaka sintetizira kompatibilne organske osmolite (eng. *compatible organic osmolytes* – COO), molekule koje fluktuiraju kao odgovor na osmotski stres i ne narušavaju staničnu funkciju. Čini se da su najčešći COO pronađeni u koraljima glicerol, alkoholni šećeri i slobodne aminokiseline. COO su sveprisutni u svim oblicima života jer se mogu akumulirati unutar stanica bez velikog utjecaja na strukturu i funkcije proteina. Isto tako, iscrpljivanje COO-a ima minimalan utjecaj na stanice dok znatan gubitak vode i iona može dovesti do apoptoze. Uz svoju ulogu u regulaciji volumena stanica, COO štite različite elemente stanica (poput makromolekula i membrana) od utjecaja toplinskog stresa i isušivanja. Ne bi imalo smisla da stanice proizvode veće, složenije molekule poput proteina kao odgovor na promjenu osmolarnosti jer je to energetski skuplje od sinteze jednostavnijih molekula ili katabolizma iz većih molekula (poput aminokiselina) kako bi služile kao osmoliti (Mayfield i Gates, 2007).

Dva potencijalna COO-a koja koriste i koralji i njihovi endosimbionti su glicerol i slobodne aminokiseline. Glicerol je vjerojatno važniji kao osmolit u dinoflagelatima jer su morske alge obično previše ograničene na dušik da bi se mogle osloniti na brze promjene razine aminokiselina. I slobodne aminokiseline i glicerol imaju glavnu ulogu u simbiotskoj funkciji osim njihove hipotetičke funkcije kao COO. Slobodne aminokiseline čine barem dio kemikalija potrebnih za oslobađanje produkata fotosinteze u citoplazmu koralja. Činjenica da simbioza održava vremenski dinamične i ekološki osjetljive količine ovih tvari snažno sugerira ulogu u osmoregulaciji (Mayfield i Gates, 2007).

Studije o slobodnoživućim algama sugeriraju da je proizvodnja i akumulacija COO-a najrasprostranjeniji mehanizam za podešavanje unutarstaničnog osmotskog tlaka kao odgovor na povišen salinitet. Suprotno tome, akumulacija COO-a prilagođava osmotski tlak i štiti proteine od povećanih koncentracija iona. Pri povišenom salinitetu utvrđene su povećane razine glukoze i galaktoze unutar koraljnih simbionata. Moguće objašnjenje krije se u činjenici da floridozid nastaje kondenzacijom glicerol-3-fosfata i UDP-galaktoze pomoću enzima UDP-galaktoziltransferaze. Zahtjevi za UDP-galaktozom mogu se osigurati mobilizacijom škroba, što rezultira povećanim količinama glukoze i/ili galaktoze. Druga komponenta potrebna za sintezu floridozida, glicerol-3-fosfat, vjerojatno nastaje fotosintezom ili iz Calvinovog ciklusa. Glicerol-3-fosfat može se proizvesti iz glicerola, koji se smatra jednim od glavnih COO-a u morskim algama (Ochsenkühn i sur., 2017).

Nadalje, rezultati Ochsenkühna i sur. (2017) pokazuju da izloženost visokim salinitetima dovodi do većih razina endosimbiotskog floridozida što može ukazivati na činjenicu da povišena razina floridozida povećava ne samo sposobnost dinoflagelata, nego i holobionta, da se nosi s visokim osmotskim tlakom u ekstremnim uvjetima. Konkretno, povećani ROS štetno djeluje na PSII u fotosintetskim organizmima, stoga je proizvodnja antioksidanata pri visokim salinitetima potencijalno važna za rod *Symbiodinium*, a floridozid predstavlja osmolit koji istovremeno obavlja funkciju uklanjanja ROS-a. Međutim, potreban je budući rad kako bi se utvrdila točna uloga koju floridozid igra kao odgovor na uvjete visokog saliniteta, bilo kao antioksidans, COO ili oboje (Ochsenkühn i sur., 2017).

5. Izbjeljivanje koralja i osmoregulacija

Opseg ovih promjena volumena stanice ovisi o trajanju i jačini poremećaja, a to će se odraziti na opseg i složenost metaboličkih odgovora u stanici. Tu spadaju poremećaji u citoskeletu, disfunkcija stanične adhezije, pomaci u citosolnom pH, ionska neravnoteža, povećanja stopa disanja, povećana sinteza RNA i DNA, stvaranje ROS-a i pokretanje apoptoze. Zanimljivo je da su gotovo svi gore spomenuti stanični utjecaji dokumentirani u slučajevima kada dolazi do izbjeljivanja koralja. U stvari, raznolikost stresora koji izazivaju reakciju izbjeljivanja i više staničnih mehanizama koji su odgovorni za gubitak simbionata iz koralja dobro se uklapaju u biološki okvir koji razmatra osmoregulaciju. Na primjer, pronađene su visoke razine ROS-a u stanicama koralja koji gube simbiozite. ROS koji potiče iz algi može nastati u izravnom odgovoru na toplinu i UV zračenje ili nakon propadanja fotosintetskih putova, posebno onih koji uključuju PSII. Ova fotoinhibicija može biti rezultat utjecaja osmotskog stresa na sposobnost prenošenja iona kroz membrane. U PSII, crpljenje H^+ iona u tilakoid i pretvorba ADP-a u ATP pokreću se gradijentima elektrona uspostavljenim u tilakoidnoj membrani. Budući da se protok iona kroz membrane može prekinuti tijekom osmotskog stresa, ne mogu se dogoditi bitni koraci fotosinteze, a posljedično tome, raspad fotosustava mogao bi dovesti do stvaranja slobodnih radikala kisika (Mayfield i Gates, 2007).

Povećana temperatura ili UV zračenje mogu dovesti do oštećenja PSII simbionata što rezultira proizvodnjom ROS-a. Ovaj se početni odgovor događa prilično brzo, a ROS se može formirati nakon samo nekoliko sekundi kada alge izgube sposobnost rasipanja svjetlosne energije. Fotosinteza je poremećena, a translokacija produkata fotosinteze iz algi u citoplazmu domaćina je smanjena, što rezultira iscrpljivanjem glicerola i, u manjoj mjeri, slobodnih aminokiselina u unutarstaničnim zalihama koralja. To uzrokuje da voda počne izlaziti iz stanice (osmoza) s ionima koji ulaze difuzijom. Ovaj hiperosmotski stresni odgovor mogao bi se pojaviti samo

nekoliko minuta nakon zaustavljanja protoka glicerola iz simbionata u citoplazmu domaćina. Koraljni proteini denaturiraju se kako se pH i membranski potencijal stanica mijenjaju zbog gubitka vode i promjene naboja. Proteini toplinskog stresa proizvode se kako bi se renaturirali denaturirani proteini ili kako bi se spriječilo njihovo nagomilavanje. Kako se stanični volumen mijenja uslijed gubitka vode, elementi citoskeleta počinju se lomiti, a adhezijski proteini se mogu odvojiti što dovodi do odvajanja cijele stanice od organizma. Za stanice koje su i dalje netaknute i vezane, COO poput glicerola brzo se proizvode kako bi se povećala unutarstanična osmotska koncentracija. Slobodni radikali nastali molekularnom razgradnjom proteina i posljedičnim porastom metabolizma uslijed osmotskog stresa uzajamno djeluju s makromolekulama uzrokujući značajno stanično oštećenje (Mayfield i Gates, 2007).

6. Filogenija

Osim svoje uloge obligatnih endosimbionata za simbiotske koralje, zooxantele su također sposobne postojati kao slobodnoživući organizmi te bi tako trebale posjedovati gene za većinu putova koji su prisutni u slobodnoživućim dinoflagelatima. Stoga *Symbiodinium* služi kao intermedijarni oblik između fotosintetskih slobodnoživućih dinoflagelata i heterotrofnih parazitskih dinoflagelata (Bertucci i sur., 2009).

U početku se smatralo da se grebenotvorni koralji povezuju s jednim simbiontom, *Symbiodinium microadriaticum*, ali su kasnije opisane dodatne vrste na temelju razlika u morfološkoj ultrastrukturi, veličini stanice, profilima izozima i fotosintetskoj učinkovitosti (Sampayo i sur., 2007). Kasnije je prepoznato da su zooxantele genetski raznolike, s različitim simbiontima povezanim s različitim domaćinima. Otkriće više vrsta zooxantela koje žive s jednom vrstom domaćina ili čak jednom kolonijom (polipi dobiveni iz jednog oplođenog jajašca) promijenilo je naš pogled na ovu simbiozu. Ova otkrića bitno mijenjaju naše shvaćanje evolucije i održavanja ovih asocijacija (Knowlton i Rohwer, 2003).

Postoji značajna razlika u osjetljivosti na izbjeljivanje među populacijama koralja zbog lokalnih razlika u termalnom okruženju te različitih genotipskih kombinacija koralja i dinoflagelata. Unutar roda *Symbiodinium* trenutno postoji devet različitih filogenetskih klada s nizom funkcionalnih fizioloških razlika među različitim filotipovima (Barshis i sur., 2014). Pojam klada (od grč. *klados* = grana) definiran je kao grupa organizama koji imaju zajedničkog pretka, odnosno jedna kompletna grana u kladogramu (Biology Dictionary). Molekularna filogenija ukazuje da postojeće klade endosimbiotskih dinoflagelata potječu iz ranog paleogena (što je

bilo prije oko 60 milijuna godina), dok skeleti fosilnih koralja ne čuvaju izravne dokaze o prisutnosti tih simbionata (Frankowiak i sur., 2016).

Poznato je da se samo četiri glavne klade roda *Symbiodinium* redovito povezuju s koraljima – A, B, C i D (Knowlton i Rohwer, 2003). Klada D pokazuje pojačanu toplinsku toleranciju te je utvrđena njena povećana rasprostranjenost u staništima karakterističnim za neuobičajeno visoke temperature i područjima koja su bila pod utjecajem prirodnih događaja izbjeljivanja koralja. Također je pokazano da koralji domaćini klade D pokazuju smanjenu razinu izbjeljivanja i veće održavanje fotosintetske učinkovitosti tijekom termičke izloženosti. Iako ovaj fenomen nije univerzalan te je klada D prisutna i u koraljima hladnih voda, moguće je da je udruživanje s toplinski tolerantnijim tipom dinoflagelata jedan od zaštitnih mehanizama koralja na povišenje temperature oceana (Barshis i sur., 2014). Fiziološke studije također sugeriraju da samo klada A može proizvesti mikrosporinske aminokiseline za koje se vjeruje da su korisne u zaštiti od oštećenja uzrokovanog UV zračenjem. Proizvodnja ovih spojeva može poboljšati konkurentsku sposobnost klade A u uvjetima slabog osvjetljenja, i obrnuto, mogu umanjiti konkurentsku sposobnost klade A u sredinama u kojima zaštita od ultraljubičastih valnih duljina nije potrebna. Također, nekoliko studija sugerira da klada B možda može biti otporna na niske temperature (Knowlton i Rohwer, 2003).

Općenito, čini se da područja dubokih grebena održavaju manje raznolike simbiotske zajednice od plitkih, što je vjerojatno posljedica više promjenjivih uvjeta u zoni plitkih grebena. Temperaturne fluktuacije u plićaku su otprilike dvostruko veće, a svjetlosno okruženje u dubini je homogeno, stoga dubinsko zoniranje klada sugerira da su simbionti prilagođeni različitim parametrima okoliša i kao takvi pružaju domaćinu put da proširi svoj dubinski raspon (Sampayo i sur., 2007).

7. Geološka prošlost

Izotopska mjerenja pažljivo odabranih uzoraka skeleta dobro očuvanih fosilnih koralja pružaju uvid u geološku prošlost koraljno-algalne simbioze, odnosno fotosimbioze. Istraživanja pokazuju da su trijaskе svoje koralja živjele u simbiozi s dinoflagelatima. Budući da je većina ovih vrsta koralja bila rasprostranjena na grebenima iz kasnog trijasa SZ dijela Tethys oceana, smatra se da je simbioza bila prevladavajući način života među koraljima plitkovodnih grebena iz tetiskog carstva. Izotopi dušika sugeriraju da je stanište koralja u Tethys oceanu bilo okruženje s malom produktivnošću i siromašno hranjivim tvarima u kojem bi fotosimbioza bila od velike koristi. Takvo plitkovodno morsko okruženje siromašno hranjivim tvarima, slično

mnogim modernim tropskim lokalitetima, pružilo je snažan poticaj za uspostavu ove simbioze. Pretpostavlja se da su alge koje su uspostavile simbiozu s trijaskim koraljima dinoflagelati roda *Suessiales*, koji se smatraju precima modernog roda *Symbiodinium*, a njihove fosilizirane ciste poznate su iz tog razdoblja. Relativna učestalost primarnih i sekundarnih karbonatnih skupina u fosilnim zapisima pokazuje da se raznolikost kamenih koralja naglo povećala od srednjeg trijasa do kasnog trijasa (prije otprilike 250 milijuna godina). Dakle, simbiotski odnos grebenotvornih koralja i dinoflagelata omogućio je stvaranje rasprostranjenih koraljnih grebena, odnosno ova simbioza je vjerojatno bila ključni pokretač u evoluciji i širenju kamenih koralja plitkih voda (Frankowiak i sur., 2016).

8. Važnost koraljnih grebena

U zajednicama koraljnih grebena u središtu je odnos između grebenotvornih koralja i njihovih simbiotskih dinoflagelata. Promjene u okolišu koje utječu na simbiotsku povezanost (npr. razina hranjivih tvari i svjetlost) utjecat će na ishranu koralja, metabolizam i kalcifikaciju, a samim tim i na cjelokupnu grebenu zajednicu. Živi grebeni ne samo da formiraju kopno, već osiguravaju i pijesak koji povezuje tropske plaže te strukture koje ublažavaju valove koji bi u protivnom uzrokovali veliku obalnu eroziju. Zaštita koju grebeni pružaju otocima posebno je vidljiva tijekom tajfuna i tropskih oluja u kojima grebenaste pukotine brzo i učinkovito raspršuju energiju valova (Richmond, 1993).

Koraljni grebeni suočavaju se s nizom ozbiljnih antropogenih prijetnji koje mogu značajno izmijeniti njihov ekološki sastav i smanjiti njihovu sposobnost pružanja esencijalnih usluga ekosustava. Ljudski utjecaji poput destruktivnog ribolova i prelova, zagađenja i nekontroliranog obalnog razvoja imaju izravan i odmah vidljiv utjecaj na grebene. Međutim, utjecaji klimatskih promjena izazvanih čovjekovim utjecajem teže su rješivi i to zahtijeva usklađene društvene akcije na globalnoj razini i tijekom mnogo generacija. Izbjeljivanje koraljnih grebena, što rezultira masovnom smrtnošću, sada je kritična globalna prijetnja koraljnim grebenima i jasno se može pripisati toplinskom stresu, a višak svjetlosti igra ključnu dodatnu ulogu (Oliver i sur., 2018).

Općenito, izbjeljivanje koralja podudara se s najtoplijim razdobljem godine i najteže je u vrijeme kada je toplije nego što je uobičajeno za to doba (Rosenberg i sur., 2007). Porast temperature za 1-2°C iznad srednjeg ljetnog maksimuma koji traje nekoliko uzastopnih tjedana može dovesti do izbjeljivanja koralja što ukazuje na to da mnoge vrste koralja žive blizu gornjih temperaturnih granica. Nadalje, masovni događaji izbjeljivanja na globalnoj razini mogu se

povezati s produženim razdobljima povišene temperature vode povezane s anomalijama u južnopacifičkoj oscilaciji (tj. događajima El Niño i La Niña) što može utjecati na više oceanskih regija (Plass-Johnson i sur., 2015). Svaki od zabilježenih događaja izbjeljivanja dogodio u bliskom vremenskom razmaku od snažnog El Niño događaja. Trenutno i predviđeno povećanje temperature oceana, koje El Niño samo dodatno pojačava, u većem dijelu tropskih oceana predviđa dramatično povećanje učestalosti i ozbiljnosti događaja izbjeljivanja. Pored toga, učestalost i opseg godišnjih zapisa o izbjeljivanju jasno su porasli u razdoblju od 1979. do 2016. godine do točke gdje se svake godine izvještava o izbjeljivanjima na raznim mjestima širom svijeta. Ako se trendovi globalnog zagrijavanja u oceanima nastave, grebeni se mogu suočiti s kombinacijom kroničnog izbjeljivanja te sve češćih i vrlo destruktivnih događaja (Oliver i sur., 2018).

Dok se toplinski stres smatra glavnim uzrokom izbjeljivanja koralja, pronađeno je da nekoliko drugih biotičkih i abiotičkih čimbenika utječe na stabilnost simbioze, uključujući smanjene temperature morske vode, supraoptimalne razine vidljivog ili UV zračenja, zakiseljavanje oceana, fluktuacije saliniteta, obogaćivanje hranjivim tvarima, bakterijske infekcije i izloženost cijanidu. Neki znanstvenici su ovom popisu dodali bakrene ione i pesticide, dok su drugi uključili sedimentaciju i zagađenje naftom kao doprinosne faktore (Plass-Johnson i sur., 2015).

Koraljni grebeni imaju ogroman ekološki, gospodarski i estetski značaj i podupiru oko 25% ukupne biološke raznolikosti oceana. Nažalost, grebenima prijeti globalna klimatska promjena i drugi antropogeni čimbenici što potvrđuje činjenica da je propalo oko 22-70% grebena širom svijeta (Tolleter i sur., 2013). Zbog starosti i stope rasta, grebeni sadrže zapise o dugoročnim klimatskim promjenama i mogu biti važni specijacijski centri u dubokom moru (Roberts i sur., 2006). Iako se koralji mogu oporaviti nakon izbjeljivanja (odgovarajuće vremenske skale oporavka kreću se od nekoliko tjedana do nekoliko mjeseci), to može uključivati dugoročne promjene u kapacitetu za recikliranje hranjivih tvari u grebenima (Plass-Johnson i sur., 2015).

Predviđanje budućnosti koraljnih grebena pod antropogenim scenarijima klimatskih promjena zahtijeva razumijevanje staničnog okoliša koralja i mehanizme koji održavaju ovu simbiozu, kao i način na koji te funkcije mogu biti narušene (Oakley i Davy, 2018). Ovo intimno partnerstvo podržava metabolizam i rast zdravih koralja gdje je održavanje obostrano korisnog prijenosa hranjivih tvari i biomolekula bitno za održavanje homeostaze i otpornosti (Petrou i sur., 2018).

9. Zaključak

Mutualizam između dinoflagelata roda *Symbiodinium* i grebenotvornih koralja temelji se na razmjeni ugljika. Fototrofni simbiot oslanja se na anorganske hranjive tvari koje mu osigurava domaćin, a zauzvrat osigurava domaćinu fiksirani organski ugljik, dopunjavajući njegove prehrambene potrebe za poticanje rasta i reprodukcije. U tropskim vodama s malo hranjivih tvari, ovaj bilateralni prijenos metabolita pruža konkurentsku prednost za preživljavanje, a pod stabilnim uvjetima ta interakcija domaćin-simbiont obostrano je korisna za oba partnera. Međutim, tijekom nepovoljnih uvjeta stanični metabolizam postaje ugrožen što uzrokuje smanjenu sposobnost za razmjenu metabolita između domaćina i simbionta. Danas su koraljni grebeni pod pritiskom porasta temperature oceana što izaziva veliko izbjeljivanje koralja. Ovaj porast temperature oceana prvenstveno je uzrokovan antropogenim utjecajem i trebali bismo poduzeti nešto po tom pitanju jer prirodu ne možemo kontrolirati, ali možemo kontrolirati vlastite postupke.

Iako se izbjeljivanje koralja često opisuje kao događaj u cijelom ekosustavu, u osnovi je proces koji se odvija na staničnoj razini. OMICS tehnologija i modeli sustava snažni su alati za analizu procesa izbjeljivanja i naći će sve izraženiju ulogu u proučavanju biologije koraljnih stanica. Naša sposobnost opisivanja, predviđanja i, možda, promjena ishoda događaja izbjeljivanja ovisi o našoj sposobnosti opisivanja staničnih mehanizama toplinskog stresa i raspada simbioze.

10. Literatura

- Albright R. (2018). Ocean Acidification and Coral Bleaching. In “*Coral Bleaching*” (Oppen, M. J. H., Lough J. M., eds.), Ecological Studies 233, 295-323.
- Barshis D. J., Ladner J. T., Oliver T. A., Palumbi S. R. (2014). Lineage-Specific Transcriptional Profiles of *Symbiodinium* spp. Unaltered by Heat Stress in a Coral Host. *Molecular Biology and Evolution*, 31 (6), 1343–1352.
- Bertucci A., Tambutté E., Tambutté S., Allemand D., Zoccola D. (2009). Symbiosis-dependent gene expression in coral-dinoflagellate association: cloning and characterization of a P-type H⁺-ATPase gene. *Proceedings. Biological sciences*, 277, 87-95.
- Buerger P., Oppen M. J. H. (2018). Viruses in corals: hidden drivers of coral bleaching and disease? *Microbiology Australia*, 9-11.
- Frankowiak K., Wang X. T., Sigman D. M., Gothmann A. M., Kitahara M. V., Mazur M., Meibom A., Stolarski J. (2016). Photosymbiosis and the expansion of shallow-water corals. *Science Advances*, 2 (11).
- Gattuso J. P., Allemand D., Frankignoulle M. (1999). Photosynthesis and Calcification at Cellular, Organismal and Community Levels in Coral Reefs: A Review on Interactions and Control by Carbonate Chemistry, *Integrative and Comparative Biology*, 39 (1), 160–183.
- Knowlton N., Rohwer F. (2003). Multispecies microbial mutualisms on coral reefs: the host as a habitat. *The American naturalist, Suppl*, 162 (4), S51-S62.
- Krediet C. J., Ritchie K. B., Paul V. J., Teplitski, M. (2013). Coral-associated micro-organisms and their roles in promoting coral health and thwarting diseases. *Proceedings. Biological sciences*, 280 (1755), 20122328.
- Lesser M. P. (1996). Elevated temperatures and ultraviolet radiation cause oxidative stress and inhibit photosynthesis in symbiotic dinoflagellates. *Limnology and Oceanography*, 41 (2), 271-283.
- Levin R., Beltran V. H., Hill R. O., Kjelleberg S. J., McDougald D., Steinberg P. D., Oppen, M. J. (2016). Sex, Scavengers, and Chaperones: Transcriptome Secrets of Divergent *Symbiodinium* Thermal Tolerances. *Molecular biology and evolution*, 33 (9), 2201-2215.

- Mayfield A. B., Gates R. D. (2007). Osmoregulation in anthozoan-dinoflagellate symbiosis. *Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology*, 147 (1), 1-10.
- Nelson D., Cox M. (2008). *Lehninger Principles of Biochemistry, 5th Edition*. W.H. Freeman & Company, 707-764.
- Nielsen D. A., Petrou K., Gates, R. D. (2018). Coral bleaching from a single cell perspective. *The ISME Journal*, 12, 1558-1567.
- Oakley C. A., Davy S. K. (2018). Cell Biology of Coral Bleaching. In “*Coral Bleaching*” (Oppen, M. J. H., Lough J. M., eds.), Ecological Studies 233, 189-211.
- Ochsenkühn M. A., Roethig T., D'Angelo C. Q., Wiedenmann J., Voolstra, C. R. (2017). The role of floridoside in osmoadaptation of coral-associated algal endosymbionts to high-salinity conditions. *Science Advances*, 3 (8).
- Oliver J. K., Berkelmans R., Eakin C. M. (2018). Coral Bleaching in Space and Time. In “*Coral Bleaching*” (Oppen, M. J. H., Lough J. M., eds.), Ecological Studies 233, 27-49.
- Oppen M. J. H., Souter P., Howells E. J., Heyward A. J., Berkelmans R. A. (2011). Novel Genetic Diversity Through Somatic Mutations: Fuel for Adaptation of Reef Corals? *Diversity*, 3, 405-423.
- Petrou K., Nielsen D. A., Heraud P. (2018). Single-Cell Biomolecular Analysis of Coral Algal Symbionts Reveals Opposing Metabolic Responses to Heat Stress and Expulsion. *Frontiers in Marine Science*, 5.
- Plass-Johnson J. G., Cardini U., Hoytema N., Bayraktarov E., Burghardt I., Naumann M. S., Wild C. (2015). Coral Bleaching. In “*Environmental Indicators*” (Armon R. H., Hänninen O., eds.), Springer, 117-146.
- Rehman A. U., Szabó M., Deák Z., Sass L., Larkum A. W., Ralph P. J., Vass I. (2016). *Symbiodinium* sp. cells produce light-induced intra- and extracellular singlet oxygen, which mediates photodamage of the photosynthetic apparatus and has the potential to interact with the animal host in coral symbiosis. *The New phytologist*, 212 (2), 472-484.
- Richmond R. H. (1993). Coral Reefs: Present Problems and Future Concerns Resulting from Anthropogenic Disturbance. *Integrative and Comparative Biology*, 33 (6), 524-536.

- Roberts J. M., Wheeler A. J., Freiwald, A. (2006). Reefs of the deep: the biology and geology of cold-water coral ecosystems. *Science*, 312 (5773), 543-547.
- Rosenberg E. J., Koren O., Reshef L., Efrony R., Zilber-Rosenberg, I. (2007). The role of microorganisms in coral health, disease and evolution. *Nature Reviews Microbiology*, 5, 355-362.
- Salih A., Hoegh-Guldberg O., Cox G. (1998). Bleaching responses of symbiotic dinoflagellates in corals: The effects of light and elevated temperature on their morphology and physiology. In *“Proceedings of the Australian Coral Reef Society 75th Anniversary Conference, Heron Island October 1997.”* (Greenwood J. G., Hall N. J., eds.) School of Marine Science, The University of Queensland, Brisbane, Australia. 199-216.
- Sampayo E. M., Franceschini L., Hoegh-Guldberg O., Dove S. (2007). Niche partitioning of closely related symbiotic dinoflagellates. *Molecular Ecology*, 16 (21), 3721-3733.
- Tolleter D., Seneca F. O., DeNofrio J. C., Krediet C. J., Palumbi S. R., Pringle J. R., Grossman A. R. (2013). Coral Bleaching Independent of Photosynthetic Activity. *Current Biology*, 23, 1782-1786.

<https://biologydictionary.net/clade/>

11. Sažetak

Grebenotvorni koralji tvore endosimbiozu s dinoflagelatnim algama iz roda *Symbiodinium*, poznatim i kao zooxantele. Ova simbioza biološka je pokretačka snaga koja je osnova za uspostavu i održavanje ekosustava tropskih koraljnih grebena. Međutim, sve češće su koraljni grebeni globalno bili pod utjecajem fenomena poznatog kao izbjeljivanje koralja koji uključuje ili masovno napuštanje koralja domaćina od strane zooxantela ili gubitak fotosintetskih pigmenta unutar pojedinih zooxantela.

Povremeno izbjeljivanje može biti reverzibilno, ali brza smrtnost oslabljenih i/ili bolesnih koralja uobičajena je s ponavljajućim ili intenzivnim događajima izbjeljivanja. Primarni okolišni čimbenik koji izaziva izbjeljivanje koralja su povišene temperature vode koje uzrokuju fiziološki toplinski stres. Ekstremne razine Sunčevog zračenja, uključujući vidljivo i UV zračenje, mogu stvoriti dodatni fiziološki stres za povećanje štetnog utjecaja termičkog izbjeljivanja. Prema oksidativnoj teoriji izbjeljivanja koralja, reaktivni oblici kisika (ROS) nastali djelovanjem oštećenog fotosintetskog aparata u simbiontu istječu u stanicu domaćina gdje nadvladavaju antioksidacijski sustav i oštećuju tkivo domaćina.

12. Summary

Reef building corals form an endosymbiosis with dinoflagellates of the genus *Symbiodinium*, also known as zooxanthellae. This symbiosis is the biological driving force that underpins the establishment and maintenance of tropical coral reef ecosystems. However, coral reefs have been affected globally by a phenomenon known as coral bleaching, which involves either the massive expulsion of zooxanthellae or the loss of photosynthetic pigments within individual zooxanthellae.

Occasional bleaching may be reversible, but rapid mortality of weakened and/or diseased corals is common with repetitive or intense bleaching events. The primary environmental factor that causes coral bleaching is elevated water temperatures that cause physiological thermal stress. Extreme levels of solar radiation, including visible and UV radiation, can create additional physiological stress to increase the harmful impact of thermal bleaching. According to the oxidative theory of coral bleaching, reactive oxygen species (ROS) produced through the activity of the damaged photosynthetic apparatus in the symbiont leak to the host cell where it overcomes the antioxidant system and causes damage to the host tissue.